

**(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)**

**(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle**
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
12 juillet 2001 (12.07.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/50123 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷: **G01N 30/90**

(21) Numéro de la demande internationale:

PCT/FR01/00022

(22) Date de dépôt international: 3 janvier 2001 (03.01.2001)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
00/00063 4 janvier 2000 (04.01.2000) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US): **BIONISIS S.A.** [FR/FR]; 56, route du Pavé Blanc, F-92140 Clamart (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement): **MINCSO-VICS, Emil** [HU/HU]; Szent István u.1, H-2000 Szentendre (HU). **KECSKÉS, László** [HU/HU]; Solt u. 32, H-1119 Budapest (HU). **TYIHKÁK, Ernö** [HU/HU]; Zápor u. 59, H-1032 Budapest (HU). **TAPA, Barnabás** [HU/HU]; Gervay u. 38, H-1147 Budapest (HU).

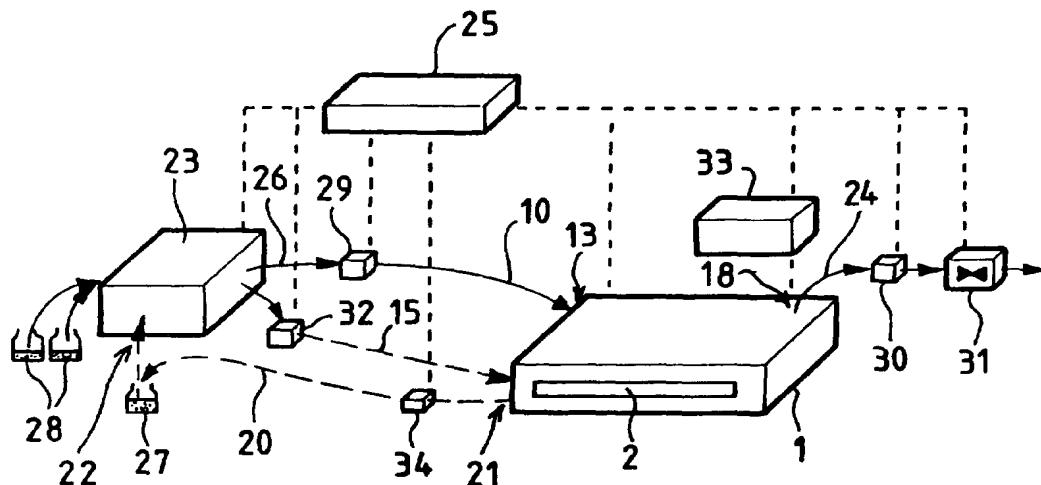
(74) Mandataires: **ERNEST GUTMANN-YVES PLASSEAUD S.A.** etc.; 3, rue Chauveau-Lagarde, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR TREATING A SAMPLE BY OVERPRESSURED LAYER CHROMATOGRAPHY A STATIONARY PHASE, UNDER CONTROLLED FORCED FLOW

(54) Titre: DISPOSITIF ET PROCEDE DE TRAITEMENT D'UN ECHANTILLON PAR SEPARATION SUR UNE PHASE STATIONNAIRE, SOUS FLUX FORCE CONTRÔLE



A1

WO 01/50123

(57) Abstract: The invention concerns a device for overpressured layer chromatography treatment of a sample comprising a chamber (1) housing a stationary phase (2) provided in a first site (6) with a sample to be treated, means for externally pressurising (8) a top surface (5) of the stationary phase, means for dispensing (10) a mobile phase in a second site (7) of the stationary phase, a mobile phase supply intake (13), and an outlet (18) for discharging the mobile phase outside the chamber. The device further comprises means (23) for feeding the intake (13) with mobile phase, a sensor (29) for measuring the pressure of the mobile phase upstream of the intake, a valve (31) arranged downstream of the outlet for varying the mobile phase flow rate at the chamber outlet, and a module (25) for controlling the valve on the basis of a comparison between the measured pressure and a selected threshold pressure, the valve (31) being open when the measured pressure is not less than the threshold pressure.

[Suite sur la page suivante]



NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Publiée:

— *Avec rapport de recherche internationale.*

(84) États désignés (regional): brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé: Un dispositif de traitement d'échantillon par séparation sous flux forcé comprend une chambre (1) logeant une phase stationnaire (2) pourvue en un premier endroit (6) d'un échantillon à traiter, des moyens de pressurisation externe (8) d'une face supérieure (5) de la phase stationnaire, des moyens de distribution (10) d'une phase mobile en un second endroit (7) de la phase stationnaire, une entrée (13) d'alimentation en phase mobile, et une sortie (18) d'évacuation de la phase mobile hors de la chambre. Le dispositif comprend en outre des moyens (23) d'alimentation de l'entrée (13) en phase mobile, un capteur (29) pour mesurer la pression de la phase mobile en amont de l'entrée, une vanne (31) placée en aval de la sortie pour faire varier le débit de la phase mobile en sortie de la chambre, et un module (25) pour commander la vanne en fonction d'une comparaison entre la pression mesurée et une pression limite choisie, la vanne (31) étant ouverte lorsque la pression mesurée est supérieure ou égale à la pression limite.

Dispositif et procédé de traitement d'un échantillon par séparation sur une phase stationnaire, sous flux forcé contrôlé

L'invention concerne le domaine de la séparation sur une phase stationnaire
5 des constituants d'un échantillon dit « complexe », à l'aide d'un flux forcé.

La séparation sous flux forcé (plus connue sous l'acronyme anglais OPLC pour OverPressured Layer Chromatography ou Optimum Performance Layer Chromatography) est une technique permettant de séparer les constituants d'un échantillon, déposé en au moins un premier endroit choisi sur une couche appelée
10 "phase stationnaire", à l'aide d'un fluide porteur, appelé « phase mobile », subissant une pression externe. Entraînés par la phase mobile, les constituants migrent sur la phase stationnaire selon un ordre connu fonction de leur rétention.

Pour ce faire, certains dispositifs de traitement comprennent une chambre de séparation, dans laquelle est introduite au moins une phase stationnaire et qui
15 comprend des moyens de pressurisation externe, permettant d'appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face supérieure de la phase stationnaire, des moyens de distribution, permettant de délivrer au moins une phase mobile en au moins un second endroit choisi de la phase stationnaire, au moins une entrée pour alimenter ces moyens de distribution et au moins une sortie
20 permettant l'évacuation de la phase mobile.

La phase mobile, qui est introduite dans la chambre de séparation de ce type de dispositif, se déplace dans la phase stationnaire selon un front appelé « front alpha ». Sous l'effet de la pression appliquée, le front alpha chasse l'air qui se trouve piégé dans la phase stationnaire, celle-ci étant initialement sèche.
25 Cependant, une partie de l'air demeure piégée dans une zone dite «zone alpha» située immédiatement derrière le front alpha et précédant une zone totalement mouillée dite «zone d'humidité totale ». Il en résulte que le front d'humidité totale n'est pas linéaire, ce qui nuit à l'efficacité de la séparation, à la reproductibilité des résultats et à la précision des analyses effectuées simultanément ou consécutivement.
30

Aucune solution connue ne permet de contrôler de façon suffisamment précise la linéarité des fronts, et notamment celui du front d'humidité totale.

L'invention a donc pour but d'améliorer la situation.

Elle propose à cet effet un dispositif du type de celui décrit dans 5 l'introduction, et dans lequel on prévoit des moyens de régulation permettant de contrôler la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la phase stationnaire, de sorte que cette pression demeure inférieure ou égale à une pression limite, liée à la pression externe choisie.

Dans ce qui suit, on entendra par « phase mobile » tout fluide permettant de 10 déplacer les constituants d'un échantillon sur la phase stationnaire. Il pourra donc s'agir d'un liquide, tel qu'un éluent, ou d'un gaz, tel que de l'air permettant de chasser un solvant préalablement introduit dans la chambre de séparation.

Ces moyens de régulation comprennent de préférence au moins une vanne placée en aval de la première sortie de phase mobile et agencée pour faire varier le 15 débit de la phase mobile en sortie de la chambre entre une valeur nulle et une valeur maximale.

Plus préférentiellement encore, les moyens de régulation comprennent en outre des moyens permettant de mesurer la pression de la phase mobile en amont de la première entrée et/ou en aval de la première sortie, ainsi qu'un module 20 agencé pour commander la vanne en fonction d'une comparaison entre la pression mesurée et la pression limite liée à la pression externe choisie (ou plus brièvement pression limite), la vanne étant ouverte pour laisser sortir la phase mobile lorsque la pression mesurée devient supérieure ou égale à la pression limite. Cette pression limite est par définition inférieure à la pression externe.

25 De la sorte, l'air qui se trouve initialement piégé dans la phase stationnaire est progressivement comprimé devant le front alpha jusqu'à ce que la pression mesurée atteigne la valeur limite choisie. La pression augmente donc progressivement dans l'ensemble de la phase mobile, y compris dans la zone alpha, si bien que la vitesse de migration du front alpha et la largeur de la zone 30 alpha diminuent, conduisant ainsi à une quasi-linéarité du front d'humidité totale.

Deux modes de fonctionnement peuvent être avantageusement envisagés pour le dispositif selon l'invention. Dans un premier mode appelé "hors ligne", ou "infusion", la phase stationnaire est extraite de la chambre, après séparation des constituants de l'échantillon, puis placée dans un analyseur externe, en vue de 5 l'identification et/ou de la quantification des composants, par exemple par densitométrie ou balayage vidéo ou encore balayage radiométrique.

Dans ce mode où l'échantillon est de préférence placé sur la phase stationnaire avant l'alimentation en phase mobile, le module de commande contrôle conjointement la vanne, les moyens d'alimentation et les moyens de pressurisation 10 externe de sorte que l'alimentation en phase mobile s'effectue pendant toute la durée de la séparation en maintenant la vanne fermée, c'est à dire jusqu'à ce que la pression mesurée de la phase mobile atteigne la pression limite (ou pression seuil). Puis, l'alimentation en phase mobile est interrompue, puis la vanne est ouverte et la pression externe est relâchée.

15 Dans un deuxième mode appelé "en ligne" ou "infusion-transfusion", les constituants séparés sur la phase stationnaire sont identifiés et/ou quantifiés à l'aide d'analyseurs, sur cette phase stationnaire et/ou en ligne en sortie de la chambre. Il s'agira par exemple d'analyse par détection ultraviolette ou visible ou encore par spectrométrie de masse. Dans ce cas d'analyse en ligne, les 20 constituants séparés sont élués par la phase mobile qui sort de la chambre.

Dans ce mode, le module de commande contrôle également conjointement la vanne, les moyens d'alimentation et les moyens de pressurisation externe de manière à ce que l'alimentation en phase mobile s'effectue pendant toute la durée 25 de la séparation et de l'analyse en maintenant la vanne fermée tant que la pression mesurée de la phase mobile est inférieure à la pression limite, puis en la maintenant ouverte.

Ici, l'échantillon peut être placé sur la phase stationnaire soit avant que ne commence l'alimentation en phase mobile, soit une fois que la vanne a été placée en position ouverte.

30 Le dispositif selon l'invention pourra comprendre d'autres caractéristiques complémentaires, prises séparément ou en combinaison, et notamment :

- la chambre pourra être agencée de manière à recevoir une cassette extractible comprenant la phase stationnaire;
- les moyens de pressurisation externe pourront comprendre un film flexible logé en regard de la face supérieure de la phase stationnaire et des moyens d'application propres à plaquer le film contre la phase stationnaire pour appliquer la pression externe d'intensité choisie;
- les moyens d'application pourront comprendre un réservoir de fluide destiné à générer la pression externe (ou plus brièvement « fluide de pressurisation externe »), couplé à un circuit d'alimentation ; mais, d'autres moyens peuvent être envisagés, tels que des moyens pneumatiques ou mécaniques ;
- le réservoir de fluide de pressurisation externe et les moyens d'alimentation en phase mobile pourront être logés dans une même unité d'alimentation en fluides;
- la phase stationnaire pourra être pourvue de l'échantillon à traiter avant d'être introduite dans la chambre, ou bien être pourvue de cet échantillon une fois introduite dans la chambre, via la même entrée ou bien via une autre entrée ;
- le module de commande pourra être agencé de manière à ordonner, avant l'introduction de l'échantillon, d'une part, à la vanne de se placer dans un état interdisant l'évacuation de la phase mobile et, d'autre part, aux moyens d'alimentation de fournir à la phase stationnaire un volume de phase mobile choisi, de préférence, de sorte que ce volume corresponde à une pression mesurée de phase mobile sensiblement égale à la pression limite.

L'invention concerne également un procédé de traitement des constituants d'au moins un échantillon par séparation sous flux forcé. Ce procédé comprend les étapes suivantes :

- 25 a) placer dans une chambre au moins une phase stationnaire propre à recevoir en au moins un premier endroit choisi au moins un échantillon à traiter,
- b) alimenter en phase mobile au moins un second endroit choisi de la phase stationnaire, tout en appliquant une pression externe d'intensité choisie sur la face supérieure de cette phase stationnaire et en interdisant à la phase mobile de quitter
- 30 la phase stationnaire,

- c) mesurer la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la chambre,
- d) comparer chaque pression mesurée à une pression limite, liée à la pression externe choisie, et, lorsque la pression mesurée devient supérieure ou égale à la pression limite, réduire la pression de la phase mobile de sorte qu'elle demeure inférieure ou égale à cette pression limite.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à l'examen de la description détaillée ci-après, et des dessins annexés, sur lesquels :

- la figure 1 illustre schématiquement un exemple de dispositif selon l'invention propre à la séparation en mode infusion et/ou infusion-transfusion,
- 10 - la figure 2 est une vue en coupe transversale de la chambre de séparation de la figure 1,
- la figure 3 est une variante de la figure 1 dans laquelle les moyens de pressurisation externe ne sont pas hydrauliques mais, par exemple, mécaniques,
- 15 - les figures 4a et 4b sont des diagrammes comparant les évolutions en fonction du temps des fronts alpha et d'humidité totale et de la pression mesurée pour les modes d'infusion (a) et d'infusion-transfusion (b), dans le cas d'une régulation sur la pression de la phase mobile mesurée en amont de la chambre,
- les figures 5a à 5d sont des variantes des dispositifs des figures 1 et 3.

Les dessins annexés sont, pour l'essentiel, de caractère certain. En 20 conséquence, ils pourront non seulement servir à compléter la description, mais aussi contribuer à la définition de l'invention le cas échéant.

Dans la description détaillée qui suit, il sera fait référence à un dispositif de traitement d'un échantillon complexe par séparation sous flux forcé (ou OPLC). On entend ici par traitement d'un échantillon, principalement la séparation des constituants qui le composent, couplée, éventuellement, à une ou plusieurs analyse(s) en ligne et/ou hors ligne de ces constituants.

Le dispositif illustré sur les figures 1 et 2 comprend tout d'abord une chambre 1 de séparation adaptée pour recevoir une couche 2 (en anglais « sorbent layer ») formant une phase stationnaire. Cette couche 2 est par exemple constituée de

5 poudre ou particules de gel de silicate, alumine, silicate de magnésium, talc à base de composants inorganiques, cellulose, résine synthétique, polyamides à base de composants organiques, ou bien de dérivés ou mélanges de certains de ces composants sur une plaque support comportant une couche 2 à une ou deux phases stationnaires de séparation. Mais, il est clair que le matériau utilisé et son état de surface (granularité, porosité, et analogues) dépendent du type d'échantillon à traiter.

10 Cette couche 2 repose, de préférence, sur un support 3 rigide supporté par le fond de la partie inférieure 4 de la chambre 1, et à quelque distance de celui-ci de sorte qu'une cavité 12 soit formée sous le support 3. Le ou les échantillons à traiter sont placés en au moins un premier endroit choisi 6 sur la face supérieure 5 de la couche 2, opposée au fond 4. Par ailleurs, la phase mobile est introduite sur cette même face supérieure 5, en au moins un second endroit choisi 7. Comme indiqué précédemment, la phase mobile est destinée à provoquer la migration des 15 constituants de l'échantillon.

On entend par "endroit", aussi bien un emplacement localisé qu'un emplacement étendu de type ligne droite, ou curviligne ou circulaire, ou bien de toute autre forme choisie.

20 Comme on le verra plus loin, les premier 6 et second 7 endroits peuvent être au moins partiellement confondus. L'homme du métier sait choisir le ou les premier(s) et second(s) endroits selon le type de traitement qu'il souhaite effectuer. Ainsi, selon les positionnements respectifs des premier(s) 6 et second(s) 7 endroits la séparation pourra être unidirectionnelle ou bien bidirectionnelle, ou circulaire, ou 25 encore anti-circulaire. Mais tout cela est bien connu de l'homme du métier, et ne fait pas l'objet de la présente invention.

30 A une faible distance au-dessus de la face supérieure 5 de la couche 2 se trouve placé un film flexible imperméable 8, par exemple en téflon. Comme on le verra plus loin, ce film 8 est destiné à appliquer une pression externe, uniforme ou non, sur la face supérieure 5 de la phase stationnaire 2. Dans l'exemple illustré sur la figure 2, le film 8 comprend, en regard d'une partie au moins du second endroit 7, une première ouverture 9 pour le passage étanche de l'extrémité d'un tube 10

destiné à distribuer la phase mobile au niveau du second endroit 7.

Dans une variante, la couche 2 (ou phase stationnaire) peut être logée préalablement dans une cassette agencée pour être introduite dans la chambre avant le traitement. La paroi supérieure de cette cassette peut, éventuellement, comprendre le film flexible de pressurisation externe. Dans cette variante, il est préférable que l'échantillon soit implanté dans la phase stationnaire 2, avant introduction de la cassette dans la chambre 1. Mais cela n'est pas obligatoire, notamment lorsque la cassette ne comporte pas de film flexible.

Si l'échantillon doit être introduit sur la couche 2 (ou phase stationnaire), une fois celle-ci placée dans la chambre 1, le film 8 comprend, en regard d'une partie au moins du premier endroit 6, une seconde ouverture pour le passage étanche de l'extrémité d'un tube destiné à l'introduction de l'échantillon au niveau du premier endroit 6. Bien entendu, lorsque les premier 6 et second 7 endroits sont au moins partiellement confondus, une unique ouverture peut être suffisante pour l'introduction de la phase mobile et de l'échantillon.

La partie supérieure de la chambre 1 est fermée par une paroi 11 placée, dans l'exemple illustré sur les figures 1 et 2, légèrement au-dessus du film 8. Cette paroi supérieure 11 comprend une première entrée 13 pour le passage étanche de l'extrémité du tube 10 de distribution de la phase mobile. La paroi inférieure 4 de la chambre comprend une seconde entrée 14 pour le passage étanche de l'extrémité d'un tube 15 d'alimentation en fluide de pressurisation externe. Ce fluide de pressurisation externe (ou fluide de transfert de pression) peut être un gaz ou comme dans l'exemple décrit ci-après, un liquide tel que de l'huile.

Le fluide de pressurisation externe circule de préférence dans un circuit fermé, dont la partie amont d'alimentation est formée par le tube 15 et la partie aval est formée par un tube 19 dont une première extrémité 20 débouche dans la cavité 12 de la chambre 1 par une ouverture étanche 21 formée, par exemple, dans sa paroi inférieure 4, tandis que l'extrémité opposée 22 de ce tube 19 débouche dans un réservoir de fluide de pressurisation externe 27. Ce réservoir 27 est couplé à une première micro-pompe qui est contrôlée par le module de commande 25 du dispositif et, de préférence, logée dans une unité 23 d'alimentation en fluide.

De préférence également, le tube 15 d'alimentation en fluide de pressurisation externe est muni d'un capteur de pression 32 qui délivre sa mesure de pression au module de commande 25. Ainsi, le module de commande 25 peut agir sur la première micro-pompe pour fixer, selon les besoins, le débit d'alimentation en fluide de pressurisation externe, et par conséquent la pression externe appliquée sur la couche 2. On peut également prévoir sur le tube 20, entre l'ouverture 21 et le réservoir 27, une vanne 34.

Lorsque le fluide de pressurisation externe circule, il exerce une pression externe sensiblement verticale sur la face inférieure du support 3, ce qui conduit à 10 le soulever et par conséquent à presser l'un contre l'autre le film 8 et la phase stationnaire 2 selon une pression externe d'intensité choisie.

Comme cela est le cas dans l'exemple de la figure 3, d'autres moyens de pressurisation externe de la phase stationnaire 2 peuvent être envisagés, comme 15 par exemple des moyens mécaniques, ou pneumatiques, ou analogues. Cela peut éviter, dans certains cas, d'utiliser un circuit externe pour l'alimentation en fluide de pressurisation externe.

Dans l'exemple illustré sur les figures 1 et 2, la chambre comprend, en au moins un troisième endroit choisi 16, localisé ou étendu, une zone de collection de la phase mobile ayant servi à la séparation des constituants de l'échantillon. Ce 20 troisième endroit peut être situé sur la phase stationnaire 2, comme illustré sur la figure 2, ou bien à la périphérie de celle-ci. Dans le premier cas, le film 8 comprend une seconde ouverture 17 pour le passage étanche de l'extrémité d'un tube 24 de collection de la phase mobile, et la chambre 2 comprend une sortie 18 étanche permettant le passage de cette extrémité du tube 24. Dans le second cas, la 25 seconde ouverture n'est pas utile, et donc seule la sortie 18 est requise.

Le tube 10 qui alimente la couche 2 en phase mobile présente une extrémité 26 raccordée à une seconde micro-pompe couplée à un ou plusieurs réservoir(s) de phase mobile 28, pour l'établissement d'un gradient continu ou par pas, et également contrôlée par le module de commande 25. De préférence, la seconde 30 micro-pompe est également logée dans l'unité 23.

Bien entendu, dans l'exemple de la figure 3, l'unité d'alimentation en fluide 23

ne sert qu'à l'alimentation en phase mobile, et par conséquent elle ne comporte qu'une seule micro-pompe.

Selon l'invention, on prévoit un capteur de pression 29 en amont de l'entrée de phase mobile 13 de la chambre 1, ou un capteur de pression 30 en aval de la 5 sortie de phase mobile 18 de cette chambre 1.

Mais, comme cela est illustré sur les figures 1 et 3, on peut également prévoir un premier capteur de pression 29 en amont de l'entrée de phase mobile 13 de la chambre 1 et un second capteur de pression 30 en aval de la sortie de phase mobile 18 de cette chambre 1. Cette dernière solution à deux capteurs est 10 particulièrement avantageuse car elle permet d'améliorer la précision du contrôle du dispositif. Le premier capteur 29 est agencé de manière à effectuer sa mesure de pression sur la phase mobile qui circule dans le tube d'alimentation 10, tandis que le second capteur 30 est agencé de manière à effectuer sa mesure de pression sur la phase mobile qui circule dans le tube de collection 24. Le premier capteur 29 15 délivre donc une mesure de pression amont PI au module de commande 25, tandis que le second capteur 30 délivre une mesure de pression aval PO au module de commande 25.

Par ailleurs, l'invention prévoit également une vanne 31 agencée pour contrôler le débit de la phase mobile en aval de la sortie de phase mobile 18. Cette 20 vanne est donc installée sur le tube de collection 24, de préférence en aval du second capteur de pression 30 (lorsque celui-ci est prévu).

L'état de fonctionnement de la vanne 31 est contrôlé par le module de commande 25 en fonction d'une première comparaison entre la première pression PI mesurée par le premier capteur 29 et une première pression limite que $P_{MI,Lim}$ et 25 d'une seconde comparaison entre la seconde pression PO mesurée par le second capteur 30 et une seconde pression limite que $P_{MO,Lim}$. La $P_{MI,Lim}$ et/ou la $P_{MO,Lim}$ sont choisies plus petites que la pression externe appliquée P_{Ext} .

Les première $P_{MI,Lim}$ et seconde $P_{MO,Lim}$ pressions limites, ainsi que P_{Ext} sont stockées dans des registres d'une mémoire, de préférence réinscriptible, de sorte 30 que les valeurs des limites puissent être adaptées aux conditions d'utilisation pour l'infusion ou l'infusion-transfusion. Le relâchement de la pression externe vient

après la séparation.

Bien entendu, lorsqu'un seul capteur de pression (29 ou 30) est prévu, le contrôle de l'état de fonctionnement de la vanne 31 par le module de commande 25 s'effectue en fonction d'une unique comparaison entre la pression mesurée (PI ou 5 PO) et la pression limite associée ($P_{MI,Lim}$ ou $P_{MO,Lim}$).

De préférence, le débit de la phase mobile qui alimente la chambre 1 et la pression externe appliquée sur la couche 2 sont également contrôlés par le module de commande 25 au niveau des micro-pompes d'alimentation.

Ainsi, en jouant sur les moyens de pressurisation externe (débit du fluide de 10 pressurisation externe ou force appliquée sur la phase stationnaire 2) et conjointement sur la vanne 31 (et donc sur le débit de collection de la phase mobile) et sur le débit d'alimentation en phase mobile, il est possible de contrôler avec une très 15 bonne précision la linéarité du front d'humidité totale qui caractérise le déplacement de la phase mobile dans la phase stationnaire 2, sous l'action des moyens de pressurisation externe.

En effet, et comme indiqué précédemment, lorsque la vanne 31 est placée dans un état "fermé" (débit nul) dans lequel elle interdit l'évacuation de la phase mobile hors de la chambre 1, l'air "piégé" dans la phase stationnaire, avant l'arrivée de la phase mobile, est progressivement comprimé devant le front alpha. La 20 pression sur ce front alpha va donc augmenter progressivement tandis que sa vitesse de migration va diminuer progressivement. La largeur de la zone partiellement humide (ou zone alpha), située entre le front alpha et le front d'humidité totale, va donc progressivement diminuer, si bien que le front d'humidité totale va progressivement tendre vers une quasi-linéarité.

25 Cet état de quasi-linéarité correspond à des pressions limites ($P_{MI,Lim}$, $P_{MO,Lim}$) qui peuvent être déterminées facilement.

Le module de commande 25 n'a donc qu'à effectuer sa ou ses comparaisons pour surveiller si la ou les pressions mesurées sont respectivement supérieures ou 30 inférieures aux pressions limites associées. Lorsque les pressions mesurées PI et PO deviennent supérieures ou égales aux pressions limites $P_{MI,Lim}$ et $P_{MO,Lim}$, qui

sont plus petites que P_{Ext} , le module de commande 25 agit sur la vanne 31, et éventuellement sur l'une au moins des micro-pompes d'alimentation, de sorte que la phase mobile puisse, ou non, sortir de la chambre 1. Lorsque la vanne 31 est à débit variable (par opposition à un fonctionnement binaire de type "tout ou rien"), le 5 débit de collection (ou d'évacuation) autorisé est déterminé en fonction de la différence entre la pression mesurée et la pression limite associée, pendant la période durant laquelle la zone partiellement humide quitte la phase stationnaire 2 et la chambre 1.

En revanche, en fonctionnement de type tout ou rien, lequel est actuellement 10 préféré pour des raisons de simplicité de la régulation, la vanne 31 est commutée de l'état "fermé" à l'état "ouvert", où l'inverse selon le résultat des comparaisons. L'état "fermé" correspond à un débit d'une valeur nulle, tandis que l'état "ouvert" correspond à un débit d'une valeur maximale.

Deux modes de fonctionnement peuvent être envisagés. Le premier mode 15 correspond à un fonctionnement du dispositif de type "hors ligne", ou "infusion", dans lequel le traitement dans le dispositif ne consiste qu'en la séparation des constituants de l'échantillon. L'analyse (détermination et/ou quantification) de ces constituants s'effectue dans un analyseur externe après séparation des constituants puis extraction de la phase stationnaire 2. Tout type d'analyse connue de l'homme 20 du métier peut être envisagé.

Dans ce premier mode, où l'échantillon peut être placé avant ou après 25 introduction de la phase stationnaire 2 dans la chambre 1, on part de préférence d'une phase stationnaire "sèche", c'est-à-dire avant que la phase stationnaire ne soit alimentée en phase mobile. Le module de commande 25 ordonne la fermeture complète de la vanne 31 puis l'alimentation en phase mobile. La vanne 31 est maintenue fermée pendant toute la durée de la séparation, c'est-à-dire tant que la pression mesurée P_I de la phase mobile en amont demeure inférieure à $P_{MI,Lim}$ ou, comme cela sera exposé plus loin en référence à la figure 4b, à $P_{MI,Lim} 0$.

Puis, lorsque la pression limite $P_{MI,Lim}$ est atteinte ou dépassée, l'alimentation 30 en phase mobile est interrompue par action sur la micro-pompe correspondante, la vanne 31 est ouverte, ce qui revient à réduire la pression de cette phase mobile,

par exemple à la pression ambiante, et enfin la pression externe est relâchée. Comme indiqué précédemment, lorsque la vanne 31 fonctionne en mode tout ou rien, elle est commutée de l'état fermé à l'état ouvert. En revanche, lorsque la vanne 31 est à débit variable, elle est commutée de l'état fermé à l'un de ses états 5 ouverts à débit non nul (strictement supérieur à zéro et inférieur ou égal au débit maximal). Cet état est choisi par le module de commande en fonction d'un critère fonction des conditions de séparation. Il repose sur la différence de viscosité entre l'air et la phase mobile.

Le second mode correspond à un fonctionnement du dispositif de type "en ligne", ou "infusion-transfusion". Le traitement dans le dispositif consiste en la séparation des constituants de l'échantillon couplée à une analyse en ligne de ses constituants et/ou à une analyse externe. Les constituants séparés sont donc identifiés et/ou quantifiés sur la phase stationnaire 2 et/ou en dehors de cette chambre par analyse de la phase mobile sortie de cette chambre, qui comporte les 15 constituants séparés.

Dans ce second mode, il est possible d'introduire l'échantillon sur la phase stationnaire 2 avant infusion, c'est-à-dire avant l'introduction de la phase mobile. Mais il pourrait en être autrement ; une étape d'infusion précédant alors l'introduction de l'échantillon. Le volume utilisé pour l'infusion est connu du module 20 de commande, dès lors que celui-ci connaît le type de phase stationnaire utilisé.

Les constituants de l'échantillon sont séparés sous l'action conjointe d'une alimentation permanente en phase mobile et d'une gestion de l'état de la vanne 31. En fait, tout comme dans le mode d'infusion, le module de commande 25 ordonne tout d'abord la fermeture complète de la vanne 31 puis l'alimentation en phase 25 mobile. Dans un mode de réalisation ne comportant qu'un capteur de pression amont, la vanne 31 est maintenue fermée tant que la pression mesurée PI de la phase mobile en amont de la chambre demeure inférieure à la pression limite $P_{MI,Lim}$ ou, comme cela sera exposé plus loin en référence à la figure 4b, à $P_{MI,Lim} 0$.

Mais, lorsque la limite $P_{MI,Lim}$ (ou $P_{MI,Lim} 0$) est atteinte ou dépassée, l'alimentation en phase mobile est maintenue et la vanne 31 est ouverte, ce qui revient à réduire la pression de cette phase mobile. Bien entendu, comme indiqué 30

5 précédemment, lorsque la vanne 31 fonctionne en mode tout ou rien, elle est commutée de l'état fermé à l'état ouvert autorisant un débit maximal d'évacuation de la phase mobile (hors de la chambre). En revanche, lorsque la vanne 31 est à débit variable, elle est commutée de l'état fermé à l'un de ses états ouverts 10 autorisant un débit non nul (strictement supérieur à zéro et inférieur ou égal au débit maximal) d'évacuation de la phase mobile (hors de la chambre). Cet état est choisi par le module de commande en fonction d'un critère fonction des conditions de séparation. La séparation terminée, l'analyse des constituants est effectuée sur la phase stationnaire et/ou à l'extérieur en utilisant la phase mobile sortie de la chambre avec les constituants séparés de l'échantillon.

15 Comme cela est illustré sur les figures 1 et 3, on peut prévoir un module d'alimentation en courant ou tension 33 pour alimenter des électrodes logées dans la chambre 1 en vue d'une séparation par électro-chromatographie ou électrophorèse. Ces électrodes sont placées parallèlement ou perpendiculairement 20 au débit, l'électrophorèse s'effectuant soit simultanément, soit séquentiellement, relativement à la séparation par la phase mobile.

25 Cependant, l'électro-chromatographie peut être effectuée après une infusion de pré-humidification (ou pré-mouillage) dans l'état ouvert de la vanne 31, en utilisant des électrodes perpendiculaires au flux. Après le pré-mouillage, l'électro-chromatographie et la chromatographie peuvent être effectuées simultanément ou séquentiellement. La séparation chromatographique et électrophorétique peut être effectuée simultanément ou séquentiellement sur la phase stationnaire pré-mouillée, en utilisant des électrodes parallèles ou perpendiculaires au flux. L'électrophorèse est bien entendu effectuée en phase humide (ou mouillé).

30 La phase stationnaire peut également comporter plusieurs zones identiques ou différentes, chacune permettant d'effectuer un traitement particulier (séparation et/ou analyse). Les moyens de pressurisation externe utilisés dans les différentes zones pourront être éventuellement différents, ou bien ils pourront être identiques mais assurer des pressions différentes.

35 Ces différents cas sont illustrés sur les diagrammes des figures 4a (infusion) et 4b (infusion-transfusion). Plus précisément, on peut voir, dans les parties

supérieures des diagrammes, les évolutions comparées au cours du temps des positions du front alpha (en trait continu et référencé 1) et du front d'humidité totale (en pointillé et référencé 2), et dans les parties inférieures, l'évolution au cours du temps de la pression mesurée PI en amont de l'entrée de chambre 13 (en trait continu et référencée 3) et de la pression mesurée PO en aval de la sortie 18 de chambre 13 (en trait continu et référencée 7).

Les rectangles désignés par A, B, C et D illustrent, pour quatre instants successifs, les profils instantanés des fronts alpha (1) et d'humidité totale (2).

Dans les parties supérieures des diagrammes, MI désigne le lieu d'introduction de la phase mobile (ou second endroit choisi 7), tandis que MO désigne le lieu de collection de la phase mobile (ou troisième endroit choisi 16). La référence (6) désigne le lieu d'implantation de l'échantillon entre MI et MO. La référence (4) désigne le lieu et l'instant où disparaît le front alpha (1). La référence (5) désigne le lieu et l'instant où disparaît le front d'humidité totale (2).

15 Par ailleurs :

- $P_{MI,Lim}$ désigne la pression limite de la phase mobile, liée à la pression externe, en amont de l'entrée 13 de la chambre;
- PO désigne la pression mesurée en aval de la sortie 18 de la chambre;
- P_{Ext} désigne la pression externe appliquée sur la phase stationnaire par les moyens de pressurisation externe (P_{Ext} est toujours strictement supérieure à $P_{MI,Lim}$, typiquement $P_{MI,Lim}$ est choisie sensiblement égale à environ 80% de P_{Ext} , par exemple ; en fait, au début de la programmation on choisit la pression externe et le module de commande en déduit automatiquement la pression limite) ;
- $P_{MI,Lim,o}$ désigne dans le mode d'infusion-transfusion une pression limite de la phase mobile, également liée à la pression externe, mais choisie inférieure à la pression limite $P_{MI,Lim}$. Il s'agit en fait d'une pression de sécurité. En d'autres termes, cette pression est la pression limite réelle qui est préférentiellement utilisée par le module de commande pour effectuer la comparaison avec la pression PI mesurée en amont de la chambre. Elle correspond par conséquent, à l'instant où l'on décide 25 d'ouvrir la vanne 31, tout en maintenant l'alimentation en phase mobile. Lorsque le 30

dispositif fonctionne selon ce mode, il est clair que le module de commande calcule directement $P_{MI,Lim\,O}$ à partir de P_{Ext} .

On se réfère maintenant aux figures 5a à 5d pour décrire différentes variantes des dispositifs illustrés sur les figures 1 et 3. Dans ces variantes, tous les 5 éléments sensiblement identiques à ceux des figures 1 et 3 portent des références identiques. Bien entendu, ces variantes ne sont que quelques exemples de réalisation parmi de nombreux autres.

La figure 5a illustre une première variante dans laquelle on prévoit une unité 35 permettant d'alimenter la phase stationnaire à la fois en phase mobile et en 10 échantillon. Cette unité 35 est donc placée sur le tube 10 d'alimentation en fluide, entre le capteur de pression amont 29 et l'entrée 13 de la chambre 1, et elle est raccordée à un tube 36 d'injection de l'échantillon qui pénètre dans la chambre par une entrée prévue à cet effet et débouche en regard du premier endroit 6. Un 15 unique tube 10 pourrait être prévu pour injecter à la fois la phase mobile et l'échantillon.

La figure 5b illustre une seconde variante dans laquelle on prévoit une unité 37 permettant d'alimenter la phase stationnaire en deux seconds endroits différents et indépendants pour effectuer une séparation de type bidirectionnel, ou bien deux séparations d'échantillons placés sur deux phases stationnaires différentes. Un 20 tube 38 alimente en phase mobile l'unité 37, tandis que deux tubes 39 et 40 repartent de l'unité 37 pour alimenter chacun l'un des deux seconds endroits, après avoir pénétré dans la chambre par deux entrées 41 et 42 et traversé le film 8 au niveau de deux ouvertures étanches 9 et 17 prévues en regard des deux seconds endroits. Dans l'hypothèse bidirectionnelle, une ligne de phase mobile, 25 sensiblement linéaire, est réalisée entre les deux lieux d'injection et la séparation s'effectue sensiblement perpendiculairement à cette ligne. Cette unité 37 a également pour fonction de diriger la (ou les différentes) phase(s) mobile(s) vers des zones appropriées de la (ou des) phase(s) stationnaire(s).

Dans cette variante, on prévoit deux troisièmes endroits indépendants pour 30 collecter chaque phase mobile ayant servi à la séparation des constituants de (ou des) l'échantillon(s) dans chacune des deux parties de la chambre 1. Cette

chambre comprend donc deux sorties de collection indépendantes 43 et 44 qui alimentent deux tubes 45 et 46 raccordés à la vanne 31, laquelle comporte par conséquent deux entrées et une sortie.

La figure 5c illustre une troisième variante dans laquelle on prévoit une unité 5 37 permettant une alimentation en parallèle de la phase stationnaire en trois seconds endroits différents et indépendants, éventuellement formés sur la même phase stationnaire ou sur trois phases stationnaires différentes. Un tube 38 alimente en phase mobile l'unité 37, tandis que trois tubes 47, 48 et 49 repartent de l'unité 37 pour alimenter chacun l'un des trois seconds endroits, après avoir pénétré 10 dans la chambre par trois entrées 50, 51 et 52 et traversé le film 8 au niveau de trois ouvertures étanches 9 prévues en regard des trois seconds endroits.

Dans cette variante à séparation de type unidirectionnel, on prévoit trois 15 troisièmes endroits indépendants pour collecter chaque phase mobile ayant servi à la séparation des constituants de (ou des) l'échantillon(s) dans chacune des trois parties de la chambre 1. Cette chambre comprend donc trois sorties de collection indépendantes 53, 54 et 55 qui alimentent trois tubes 56, 57 et 58 raccordés à la vanne 31, qui dans cette variante est une vanne triple permettant de laisser sortir séparément et indépendamment chacune des trois phases mobiles collectées.

La figure 5d illustre une quatrième variante dans laquelle on prévoit une 20 unité 59 permettant d'alimenter la phase stationnaire à la fois en phase mobile et en échantillon. L'alimentation en phase mobile peut s'effectuer en parallèle sur trois voies, comme sur la figure 5c, tout comme l'implantation d'échantillon qui peut s'effectuer en parallèle sur trois voies. Cette unité 59 est donc raccordée, d'une 25 part, à trois tubes d'alimentation en phase mobile 60, 61 et 62 qui pénètrent dans la chambre par trois entrées de fluide 66, 67 et 68 et traversent le film 8 au niveau de trois ouvertures étanches 9 prévues en regard de trois seconds endroits, et d'autre part, à trois tubes d'injection d'échantillon 63, 64 et 65 qui pénètrent dans la chambre par trois entrées d'échantillon 69, 70 et 71 et traversent le film 8 au niveau de trois ouvertures étanches prévues en regard de trois premiers endroits.

30 Dans cette variante de séparation de type unidirectionnel, on prévoit trois troisièmes endroits indépendants pour collecter chaque phase mobile ayant servi à

la séparation des constituants de (ou des) l'échantillon(s) dans chacune des trois parties de la chambre 1. Cette chambre comprend donc trois sorties de collection indépendantes 72, 73 et 74 qui alimentent trois tubes 75, 76 et 77 raccordés à la vanne 31, qui dans cette variante est une vanne triple permettant de laisser sortir 5 séparément et indépendamment chacune des trois phases mobiles collectées.

L'invention concerne également un procédé de traitement d'un échantillon par séparation sous flux forcé (OPLC). Ce procédé comprend les étapes suivantes.

Dans une première étape on place dans une chambre au moins une phase stationnaire propre à recevoir en au moins un premier endroit choisi au moins un échantillon à traiter. Bien entendu, la chambre peut être agencée pour recevoir 10 plusieurs phases stationnaires en parallèle ou en série, ou bien empilées les unes sur les autres, comme cela est bien connu de l'homme du métier.

Cette phase stationnaire, qui est de préférence une couche du type de celle présentée dans la description du dispositif selon l'invention, est soit directement 15 placée dans la chambre sur un support prévu à cet effet, soit préalablement placée dans une cassette qui est alors introduite dans la chambre. De même, l'échantillon peut être placé sur la phase stationnaire prévue pour séparer ses constituants avant que la phase stationnaire ne soit introduite dans la chambre, ou bien implanté (ou injecté) une fois la phase stationnaire introduite dans la chambre.

20 Dans une seconde étape, on alimente en phase mobile au moins un second endroit choisi de la phase stationnaire, tout en appliquant une pression externe d'intensité choisie sur une face supérieure de la phase stationnaire et en interdisant à la phase mobile de quitter la phase stationnaire.

Cette pression externe n'est pas forcément uniforme. On peut en effet 25 envisager d'appliquer des pressions externes différentes sur des zones différentes d'une même phase stationnaire, ou sur des phases stationnaires différentes placées dans une même chambre.

Dans une troisième étape, on effectue une mesure de la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la chambre.

30 Dans une quatrième étape, on compare la ou les pressions amont et/ou aval

qui vien(nen)t d'être mesurée(s) à une (ou des) pression(s) limite(s) amont et/ou aval. Puis, lorsque la (ou les) pression(s) mesurée(s) est (sont) supérieure(s) ou égale(s) à la (ou aux) pression(s) limite(s) associée(s) et la pression limite de la phase mobile, liée à la pression externe (P_{Ext}), laquelle est plus grande que la (les) 5 pression(s) limite(s), on réduit la pression de la phase mobile de sorte qu'elle demeure inférieure ou égale à la pression limite. Dans un mode de fonctionnement de type tout ou rien, cette réduction de pression est pas adaptable (en fait on place la phase mobile à la pression ambiante). En revanche, dans un mode de fonctionnement de type « variable », la valeur de la pression peut être choisie en 10 fonction du résultat de la comparaison.

Tout comme cela a été précédemment indiqué dans la partie détaillant le dispositif, le procédé peut s'appliquer au mode d'infusion (ou « hors ligne ») ou bien au mode d'infusion-transfusion (ou « en ligne »).

La séparation par transfusion conventionnelle est également possible 15 lorsque la vanne 31 est dans son état ouvert pendant le processus de séparation.

Dans le mode d'infusion, on procède lors de la quatrième étape du procédé à l'interruption définitive de l'alimentation de la phase stationnaire en phase mobile lorsque la pression amont mesurée devient supérieure ou égale à la pression $P_{MI,Lim}$. En fait, comme illustré sur la figure 4b, il est possible de décider d'utiliser 20 $P_{MI,Lim}$ ou comme pression limite servant à la comparaison, laquelle est strictement inférieure à $P_{MI,Lim}$. Puis, on place la phase mobile à la pression ambiante, de préférence, ce qui revient à réduire la pression de cette phase mobile, et enfin on relâche la pression externe.

Dans le mode d'infusion-transfusion, lors de la quatrième étape, on interdit à 25 la phase mobile de sortir de la chambre, puis on alimente en phase mobile. L'interdiction est maintenue tant que la pression mesurée de la phase mobile en amont de la chambre demeure inférieure à la pression limite. Lorsque la pression limite $P_{MI,Lim}$ ou $P_{MI,Lim}$ (selon le choix effectué au début) est atteinte ou dépassée, l'alimentation en phase mobile est maintenue et on laisse sortir la phase mobile 30 hors de la chambre, ce qui revient à réduire la pression de cette phase mobile. On peut envisager qu'une fois la vanne ouverte, on effectue une régulation du débit

sortant de la phase mobile de sorte que la (ou les) pression(s) mesurée(s) de cette phase mobile demeure(nt) sensiblement comprise(nt) entre la (ou les) pression(s) limite(s) associée(s) et une pression minimale, pendant toute la durée du traitement.

5 Dans un mode de réalisation préférentiel, lors de la seconde étape la pression externe est appliquée sur la phase stationnaire par un moyen fluidique, de préférence hydraulique. Mais bien entendu, d'autres modes d'application peuvent être envisagés, notamment par des moyens mécaniques ou pneumatiques.

10 On peut, lors de la première étape, commencer par alimenter la phase stationnaire en phase mobile, avant d'implanter l'échantillon. Cette alimentation consiste en un remplissage de la phase stationnaire avec un volume choisi. L'évacuation de la phase mobile hors de la chambre est par conséquent interdite pendant cette phase d'alimentation. Avantageusement, le volume de phase mobile qui est admis dans la chambre correspond à peu près au volume total de la phase 15 stationnaire quand la pression mesurée est sensiblement égale à la pression limite.

Plus généralement, tout ce qui a été dit dans la partie décrivant le dispositif s'applique également au procédé.

20 L'invention ne se limite pas aux modes de réalisation de dispositifs et de procédés décrits ci-avant, seulement à titre d'exemple, mais elle englobe toutes les variantes que pourra envisager l'homme du métier dans le cadre des revendications ci-après.

25 Ainsi, on a décrit des dispositifs dans lesquels les moyens de régulation de flux comprenaient avantageusement un module de contrôle couplé à une vanne ainsi qu'à des moyens de mesure de la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la chambre. Mais, l'invention concerne également les dispositifs dans lesquels les moyens de régulation de flux ne comportent qu'une vanne de régulation du débit de la phase mobile dans la chambre, cette vanne étant pilotée soit manuellement, soit par un module de contrôle programmable.

30 Par ailleurs, on a décrit des dispositifs dans lesquels la chambre ne traitait qu'une ou plusieurs phases stationnaires placées les unes à côté des autres sur un

même support. Mais la chambre peut être adaptée pour recevoir plusieurs phases stationnaires empilées les unes sur les autres, avec ou sans support, et utilisées en série ou en parallèle, avec ou sans intercalaire.

D'autre part, on a décrit un mode de réalisation dans lequel on introduisait 5 une phase mobile liquide pour entraîner les constituants de l'échantillon. Mais, l'invention s'applique également lorsque l'on introduit tout d'abord un solvant puis que l'on utilise un gaz tel que de l'air pour déplacer (chasser) le solvant mélangé aux constituants de l'échantillon. L'air sert alors de phase mobile. Cette technique est connue sous le nom de chromatographie « flash ». Il en résulte que dans tout 10 ce qui précède et ce qui suit, la phase mobile doit être prise dans une définition large, à savoir « fluide d'entraînement », qu'il soit gazeux ou liquide.

Revendications

1. Dispositif de traitement d'un échantillon par séparation sous flux forcé, du type comprenant :

5 - une chambre (1) agencée pour loger au moins une phase stationnaire (2) propre à recevoir en au moins un premier endroit choisi (6) au moins un échantillon à traiter, des moyens de pressurisation externe (8) propres à appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face supérieure de la phase stationnaire, des moyens de distribution (10) d'une phase mobile en au moins un second endroit choisi (7) de la 10 phase stationnaire (2), au moins une première entrée (13) d'alimentation desdits moyens de distribution (10) en phase mobile, et une première sortie (18) d'évacuation de la phase mobile hors de la chambre (1), et

10 - des moyens agencés pour alimenter ladite première entrée (13) en phase mobile, caractérisé en ce qu'il comprend des moyens de régulation (31) propres à contrôler la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la phase 15 stationnaire (2), de sorte que cette pression demeure inférieure ou égale à une pression limite, liée à la pression externe choisie.

2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que lesdits moyens de régulation comprennent une vanne (31) placée en aval de ladite 20 première sortie (18) et propre à faire varier le débit de la phase mobile en sortie de la chambre (1) entre une valeur nulle et une valeur maximale.

3. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que lesdits moyens de régulation comprennent en outre des moyens (29 ;30) propres à mesurer la pression de la phase mobile en amont de ladite première entrée (13) 25 et/ou en aval de ladite première sortie (18) et un module (25) agencé pour commander ladite vanne (31) en fonction d'une comparaison entre la pression mesurée et ladite pression limite, ladite vanne étant placée dans un état ouvert lorsque la pression mesurée est supérieure ou égale à ladite pression limite.

4. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que ledit module

de commande (25) est agencé pour commander lesdits moyens d'alimentation et lesdits moyens de pressurisation externe (8), conjointement avec ladite vanne (31), en fonction de ladite comparaison.

5. Dispositif selon la revendication 4, caractérisé en ce que ledit module de commande (25) est propre à ordonner auxdits moyens d'alimentation d'interrompre l'alimentation de la chambre (1) en phase mobile, puis à ladite vanne (31) de se placer dans un état ouvert et auxdits moyens de pressurisation externe de relâcher la pression externe, dès que la pression mesurée devient supérieure ou égale à la pression limite.

10 6. Dispositif selon la revendication 4, caractérisé en ce que ledit module de commande (25) est agencé, après ladite ouverture de vanne, pour ordonner auxdits moyens d'alimentation (23) de continuer à alimenter en phase mobile la première entrée (13) de ladite chambre, et pour ordonner à la vanne (31) de se placer dans un état ouvert autorisant ladite phase mobile à sortir de la chambre 15 selon un débit choisi.

7. Dispositif selon la revendication 6, caractérisé en ce que ladite chambre (1) loge des moyens d'analyse des constituants de l'échantillon.

8. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que ladite chambre (1) est agencée pour recevoir une cassette extractible comprenant 20 ladite phase stationnaire.

9. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que lesdits moyens de pressurisation externe comprennent un film flexible (8) logé en regard de la face supérieure (5) de la phase stationnaire (2) et des moyens d'application propres à plaquer l'un contre l'autre ledit film (8) et ladite phase 25 stationnaire selon une pression externe d'intensité choisie, ledit film (8) comportant une ouverture (9) étanche pour l'alimentation de la phase stationnaire (2) par les moyens de distribution (10).

10. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que lesdits moyens d'application comprennent une pompe couplée à un réservoir (27) pour le 30 fluide destiné à générer la pression externe et propre à alimenter une partie amont

(15) d'un circuit débouchant en dessous de la phase stationnaire (2), et en ce que ladite chambre (1) comprend une seconde sortie (21) étanche agencée pour recueillir le fluide de pressurisation externe pour alimenter une partie aval (20) du circuit, raccordée audit réservoir (27).

5 11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce que ladite pompe à fluide de pressurisation externe (27) et lesdits moyens d'alimentation en phase mobile sont placés dans une unité d'alimentation en fluides (23) contrôlée par ledit module de commande (25).

10 12. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que ladite phase stationnaire (2) est pourvue dudit échantillon à traiter avant d'être introduite dans ladite chambre (1).

13. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que ladite chambre (1) comporte une seconde entrée pour l'acheminement de l'échantillon au niveau du premier endroit (6) de ladite phase stationnaire (2).

15 14. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que lesdits premier (6) et second (7) endroits sont au moins partiellement confondus.

15. Dispositif selon la revendication 14, caractérisé en ce que lesdits moyens d'alimentation sont agencés pour alimenter ladite première entrée en phases stationnaire et mobile.

20 16. Dispositif selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisé en ce que le module de commande (25) est agencé pour ordonner, avant l'acheminement de l'échantillon, d'une part, à ladite vanne (31) de se placer dans un état tel qu'il interdit l'évacuation de la phase mobile hors de la chambre et, d'autre part, aux moyens d'alimentation de fournir à la phase stationnaire un volume de phase mobile choisi.

25 17. Dispositif selon la revendication 16, caractérisé en ce que ledit volume est choisi de sorte qu'il soit sensiblement égale à un volume nécessaire pour que la pression mesurée soit sensiblement égale à la pression limite.

18. Dispositif selon l'une des revendications 3 à 17, caractérisé en ce que 30 lesdits moyens de mesure (29 ;30) comprennent un premier capteur (29) propre à

mesurer la pression de la phase mobile en amont de ladite première entrée (13) et un second capteur (30) propre à mesurer la pression de la phase mobile en aval de ladite première sortie (18), et en ce que ledit module de commande (25) est agencé pour commander lesdits moyens d'alimentation et ladite vanne (31) en fonction 5 d'une première comparaison entre la pression mesurée en amont de la chambre et une première pression limite et d'une seconde comparaison entre la pression mesurée en aval de la chambre et une seconde pression limite.

19. Procédé de traitement d'un échantillon par séparation sous flux forcé, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- 10 a) placer dans une chambre au moins une phase stationnaire propre à recevoir en au moins un premier endroit choisi au moins un échantillon à traiter,
- b) alimenter en phase mobile au moins un second endroit choisi de la phase stationnaire, tout en appliquant une pression externe d'intensité choisie sur une face supérieure de cette phase stationnaire et en interdisant à ladite phase mobile de 15 sortir de la phase stationnaire,
- c) mesurer la pression de la phase mobile en amont et/ou en aval de la chambre,
- d) comparer cette pression mesurée à une pression limite liée à la pression externe choisie, et, lorsque la pression mesurée devient supérieure ou égale à ladite pression limite, réduire la pression de la phase mobile de sorte qu'elle demeure 20 inférieure ou égale à cette pression limite.

20. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'à l'étape d), lorsque la pression mesurée devient supérieure ou égale à la pression limite, on interrompt définitivement l'alimentation en phase mobile, puis on place la phase mobile introduite dans la phase stationnaire à la pression ambiante, et on relâche la 25 pression externe.

21. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'à l'étape d), lorsque la pression mesurée devient supérieure ou égale à la pression limite, on laisse la phase mobile sortir de la chambre selon un débit choisi, non nul, tout en continuant d'alimenter ladite phase stationnaire en phase mobile.

30 22. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'à l'étape d)

l'alimentation en phase mobile est effectuée par pressurisation et/ou par un champ électrique.

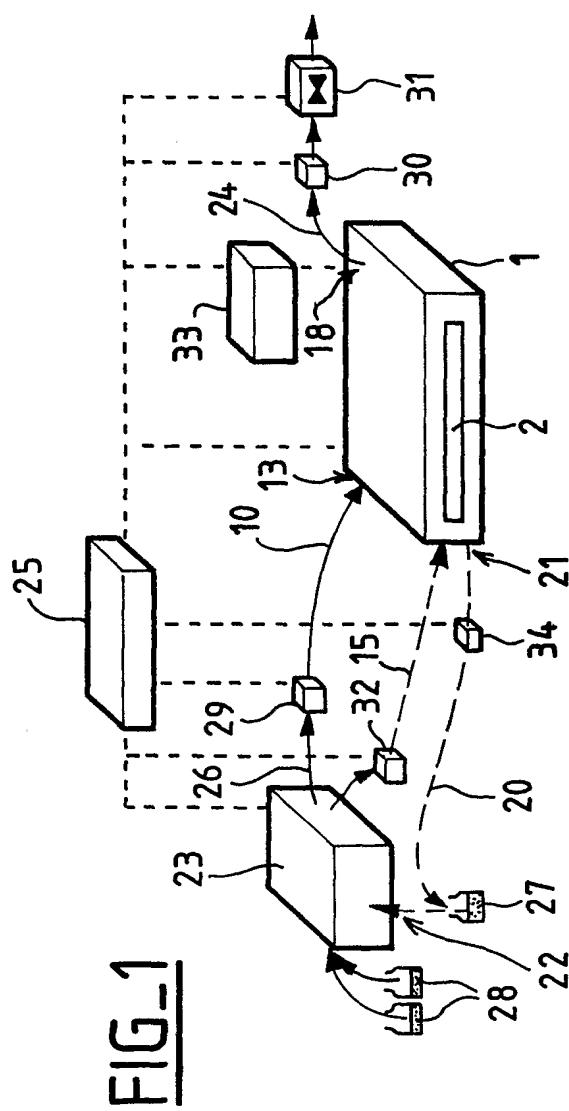
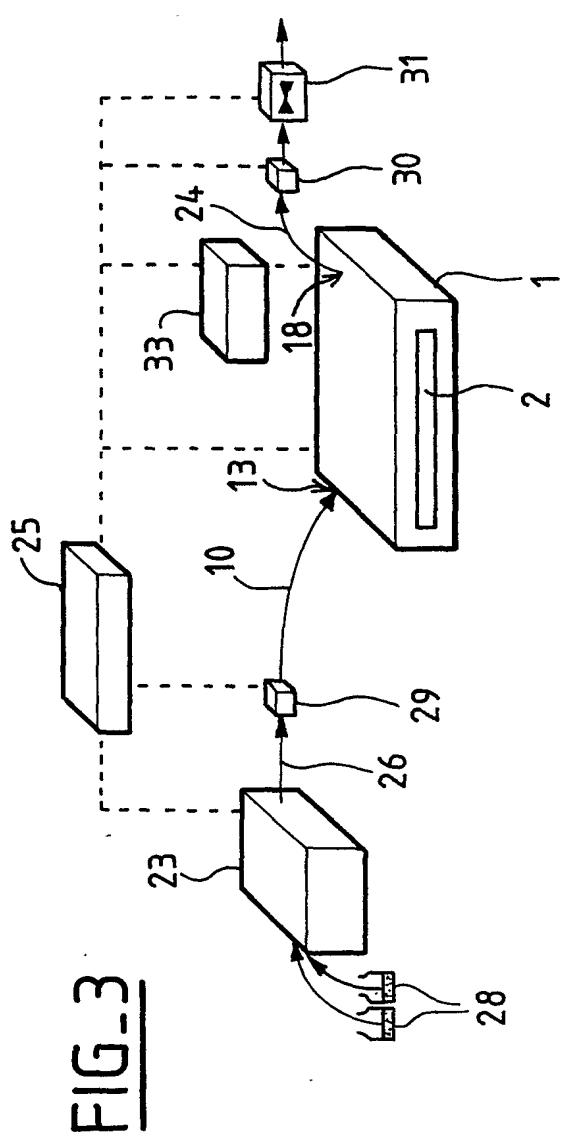
23. Procédé selon l'une des revendications 19 à 22, caractérisé en ce qu'à l'étape b) la pression externe est appliquée sur la phase stationnaire par des moyens hydrauliques.

24. Procédé selon l'une des revendications 19 à 23, caractérisé en ce qu'à l'étape a) la phase stationnaire est préalablement pourvue d'échantillon(s) à traiter.

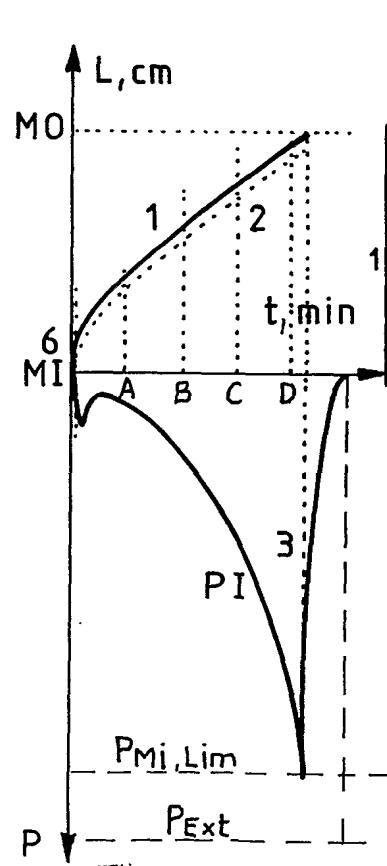
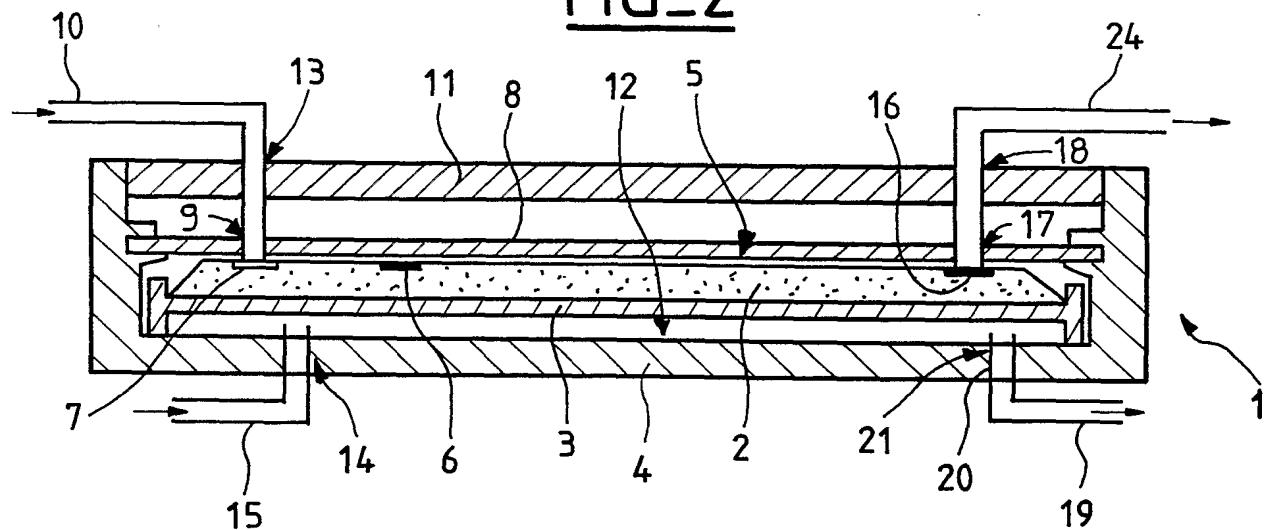
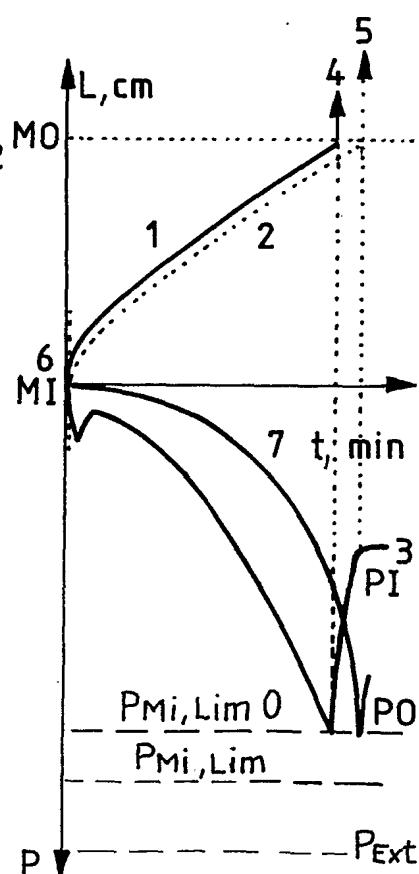
25. Procédé selon l'une des revendications 19 à 23, caractérisé en ce qu'à l'étape a) la phase stationnaire est pourvue d'échantillon à traiter après une sous-étape dans laquelle on alimente la phase stationnaire en phase mobile, tout en interdisant son évacuation hors de la chambre, jusqu'à ce que ladite phase stationnaire ait reçu un volume de phase mobile choisi.

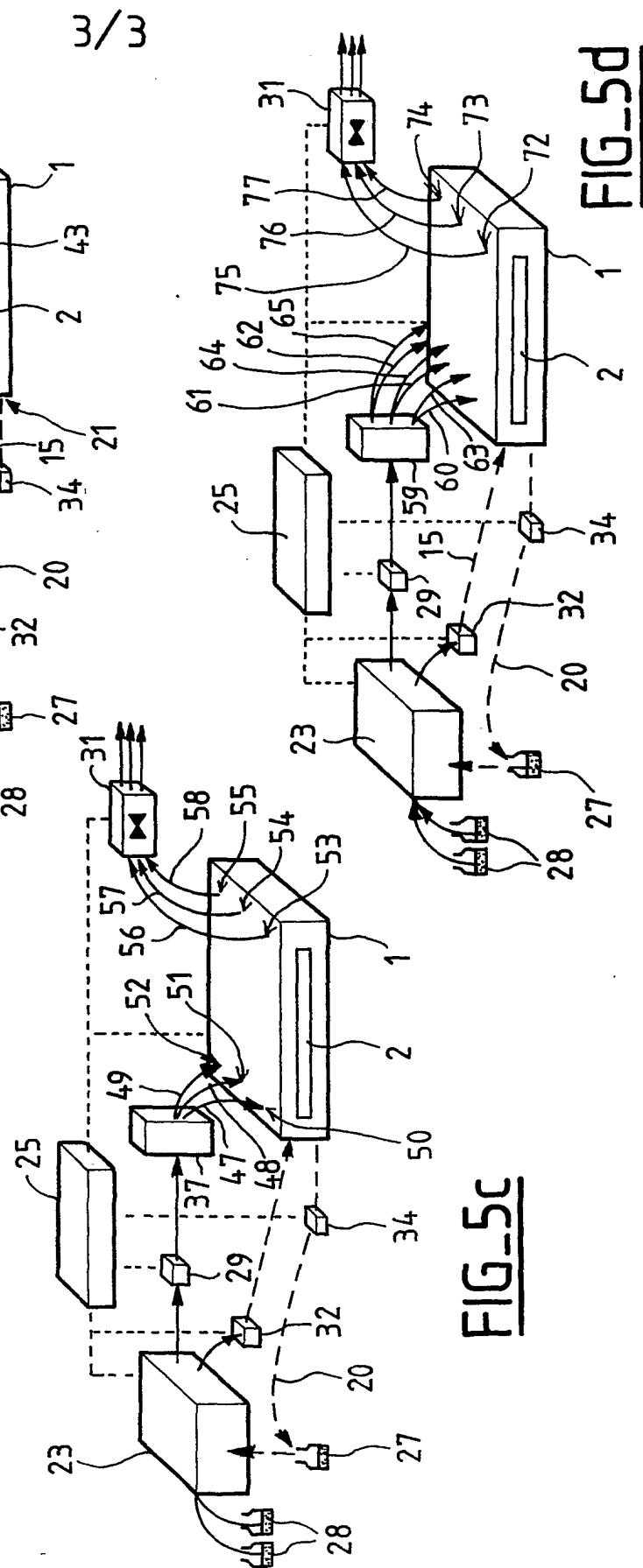
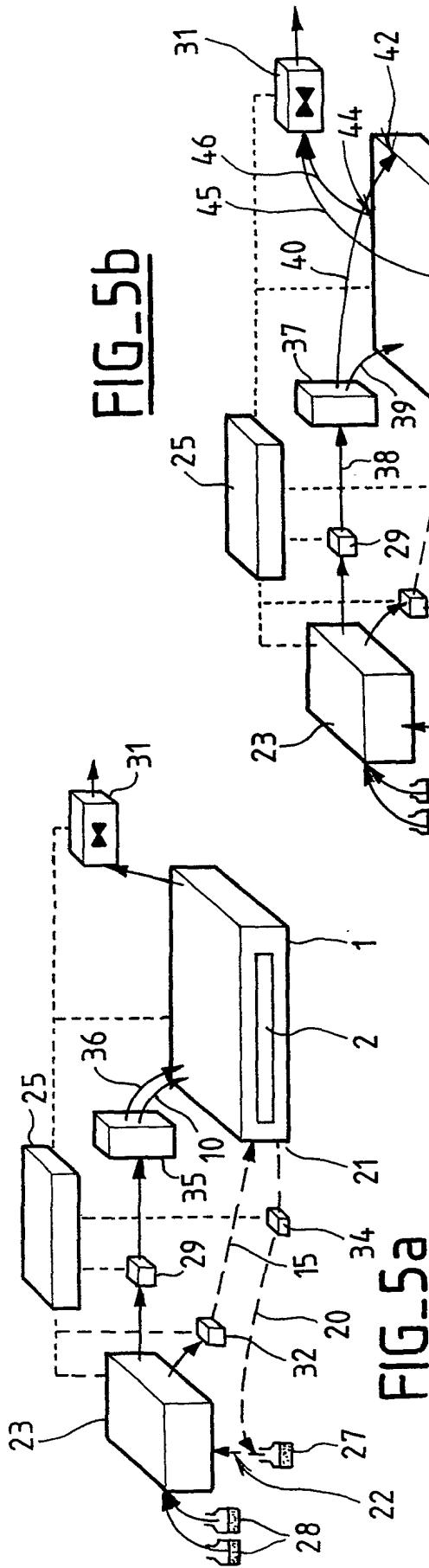
26. Procédé selon la revendication 25, caractérisé en ce que ledit volume est choisi de sorte qu'il corresponde à une pression mesurée sensiblement égale à ladite pression limite.

1/3



2/3

FIG_2FIG_4aFIG_4b



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/FR 01/00022A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N30/90

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB 2 088 740 A (MUESZERIPARI MUEVEK LAB) 16 June 1982 (1982-06-16)	1,19
A	page 1, line 67-72 page 2, column 4-7 ----	2,20
A	US 4 346 001 A (DIOS SANDOR ET AL) 24 August 1982 (1982-08-24) column 3, line 12-27 column 4, line 22-31 ----	1,19
A	WO 92 03726 A (LABORATORIUMI MUESZERGYAR RT) 5 March 1992 (1992-03-05) page 25, line 10-25; figure 15 ----	1,19

 Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 March 2001

Date of mailing of the international search report

15/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Zinngrebe, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In national Application No

PCT/FR 01/00022

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
GB 2088740	A 16-06-1982	HU	187282 B	28-12-1985
		CH	658727 A	28-11-1986
		DD	202346 A	07-09-1983
		DE	3147405 A	25-11-1982
		FR	2495779 A	11-06-1982
		PL	234122 A	02-08-1982
		SE	8106866 A	06-06-1982
US 4346001	A 24-08-1982	NONE		
WO 9203726	A 05-03-1992	HU	60934 A	30-11-1992

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De Internationale No
PCT/FR 01/00022

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 G01N30/90

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	GB 2 088 740 A (MUESZERIPARI MUEVEK LAB) 16 juin 1982 (1982-06-16)	1,19
A	page 1, ligne 67-72 page 2, colonne 4-7 ---	2,20
A	US 4 346 001 A (DIOS SANDOR ET AL) 24 août 1982 (1982-08-24) colonne 3, ligne 12-27 colonne 4, ligne 22-31 ---	1,19
A	WO 92 03726 A (LABORATORIUMI MUESZERGYAR RT) 5 mars 1992 (1992-03-05) page 25, ligne 10-25; figure 15 ---	1,19

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

6 mars 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15/03/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Zinngrebe, U

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De Internationale No

PCT/FR 01/00022

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)			Date de publication
GB 2088740	A	16-06-1982	HU	187282 B	28-12-1985
			CH	658727 A	28-11-1986
			DD	202346 A	07-09-1983
			DE	3147405 A	25-11-1982
			FR	2495779 A	11-06-1982
			PL	234122 A	02-08-1982
			SE	8106866 A	06-06-1982
US 4346001	A	24-08-1982	AUCUN		
WO 9203726	A	05-03-1992	HU	60934 A	30-11-1992